

PATENT COOPERATION TREATY



PCT

NOTIFICATION OF RECEIPT OF
RECORD COPY

(PCT Rule 24.2(a))

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

YANAGIHARA, Shigeru
503, Nishishinbashi Chuo Building
15-8, Nishishinbashi 3-chome
Minato-ku
Tokyo 105-0003
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 03 May 1999 (03.05.99)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference 462WO	International application No. PCT/JP99/01684

The applicant is hereby notified that the International Bureau has received the record copy of the international application as detailed below.

Name(s) of the applicant(s) and State(s) for which they are applicants:

NOF CORPORATION (for all designated States except US)
HOSOTANI, Ryuzo et al (for US)

International filing date : 31 March 1999 (31.03.99)
Priority date(s) claimed :
Date of receipt of the record copy
by the International Bureau : 16 April 1999 (16.04.99)
List of designated Offices :

EP : BE, CH, DE, FR, GB, IT, NL
National : AU, JP, KR, US

ATTENTION

The applicant should carefully check the data appearing in this Notification. In case of any discrepancy between these data and the indications in the international application, the applicant should immediately inform the International Bureau.

In addition, the applicant's attention is drawn to the information contained in the Annex, relating to:

- ☒ time limits for entry into the national phase
☒ confirmation of precautionary designations
☐ requirements regarding priority documents

A copy of this Notification is being sent to the receiving Office and to the International Searching Authority.

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. (41-22) 740.14.35

Authorized officer:

Susumu Kubo

Telephone No. (41-22) 338.83.38

002599603

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PCT

**NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE
COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL
APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES**

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

YANAGIHARA, Shigeru
503, Nishishinbashi Chuo Building
15-8, Nishishinbashi 3-chome
Minato-ku
Tokyo 105-0003
JAPON

RECEIVED

OCT. 24. 2000

YANAGIHARA
&
ASSOCIATES

Date of mailing (day/month/year) 12 October 2000 (12.10.00)		IMPORTANT NOTICE	
Applicant's or agent's file reference 462WO			
International application No. PCT/JP99/01684	International filing date (day/month/year) 31 March 1999 (31.03.99)	Priority date (day/month/year)	
Applicant NOF CORPORATION et al			

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this Notice:
 AU, KR, US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present Notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:
 EP, JP

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this Notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on 12 October 2000 (12.10.00) under No. WO 00/59948

REMINDER REGARDING CHAPTER II (Article 31(2)(a) and Rule 54.2)

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, a demand for international preliminary examination must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 19 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 19-month time limit.

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))

If the applicant wishes to proceed with the international application in the national phase, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt of Record Copy) and Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Authorized officer J. Zahra Telephone No. (41-22) 338.83.38
---	--

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PCT

37C1

世界知的所有権機関
国際事務局

特許協力条約に基づいて公開された国際出願



(51) 国際特許分類6 C08B 37/00, 15/00	A1	(11) 国際公開番号 WO00/59948 (43) 国際公開日 2000年10月12日(12.10.00)
(21) 国際出願番号 PCT/JP99/01684 (22) 国際出願日 1999年3月31日(31.03.99) (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 日本油脂株式会社(NOF CORPORATION)[JP/JP] 〒150-6019 東京都渋谷区恵比寿四丁目20番3号 Tokyo, (JP) (72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてののみ) 細谷竜三(HOSOTANI, Ryuzo)[JP/JP] 〒305-0045 茨城県つくば市梅園2丁目24番地5 Ibaraki, (JP) 林 昭男(HAYASHI, Akio)[JP/JP] 〒277-0831 千葉県柏市根戸421番地3 Chiba, (JP) 中野善郎(NAKANO, Yoshio)[JP/JP] 〒305-0045 茨城県つくば市梅園2丁目15番地5 Ibaraki, (JP) (74) 代理人 弁理士 柳原 成(YANAGIHARA, Shigeru) 〒105-0003 東京都港区西新橋3丁目15番8号 西新橋中央ビル503号 Tokyo, (JP)		(81) 指定国 AU, JP, KR, US, 欧州特許 (BE, CH, DE, FR, GB, IT, NL) 添付公開書類 国際調査報告書

(54) Title: METHOD OF FORMING AGGLOMERATES OF POLYSACCHARIDE WITH HYDROPHOBIC GROUPS**(54) 発明の名称** 疎水性基含有多糖類の集合体の形成方法**(57) Abstract**

A method of forming agglomerates of a polysaccharide containing hydrophobic groups in water which comprises adding the polysaccharide to water to swell it and treating the mixture with a homogenizer at a pressure of 9.8 to 490 MPa (100 to 5,000 kgf/cm²) to disperse the swollen polysaccharide. Thus, homogeneous agglomerates of a polysaccharide containing hydrophobic groups are stably and easily formed in a large quantity in a short time period.

RECEIVED
DEC 11 2000
IC 3700 MAIL ROOM

水中で疎水性基含有多糖類の集合体を形成させる方法において、疎水性基含有多糖類を水に膨潤させた後、この膨潤液をホモジナイザーにより9.8～490 MPa (100～5000 kgf/cm²) の圧力で分散処理し、これにより安定して均質な疎水性基含有多糖類の集合体を簡便かつ大量に、しかも短時間で形成する。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE	アラブ首長国連邦	DM	ドミニカ	KZ	カザフスタン	RU	ロシア
AG	アンティグア・バーブーダ	DZ	アルジェリア	LC	セントルシア	SD	スーダン
AL	アルバニア	EE	エストニア	LI	リヒテンシュタイン	SE	スウェーデン
AM	アルメニア	ES	スペイン	LK	スリ・ランカ	SG	シンガポール
AT	オーストリア	FI	フィンランド	LR	リベリア	SI	スロヴェニア
AU	オーストラリア	FR	フランス	LS	レソト	SK	スロヴァキア
AZ	アゼルバイジャン	GA	ガボン	LT	リトアニア	SL	シエラ・レオネ
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB	英国	LU	ルクセンブルグ	SN	セネガル
BB	バルバドス	GD	グレナダ	LV	ラトヴィア	SZ	スワジランド
BE	ベルギー	GE	グルジア	MA	モロッコ	TD	チャード
BF	ブルキナ・ファソ	GH	ガーナ	MC	モナコ	TG	トーゴ
BG	ブルガリア	GM	ガンビア	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BJ	ベナン	GN	ギニア	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BR	ブラジル	GR	ギリシャ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア共和国	TR	トルコ
BY	ベラルーシ	GW	ギニア・ビサウ			TT	トリニダード・トバゴ
CA	カナダ	HR	クロアチア	ML	マリ	TZ	タンザニア
CF	中央アフリカ	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	UA	ウクライナ
CG	コンゴ	ID	インドネシア	MR	モーリタニア	UG	ウガンダ
CH	スイス	IE	アイルランド	MW	マラウイ	US	米国
CI	コートジボワール	IL	イスラエル	MX	メキシコ	UZ	ウズベキスタン
CM	カメルーン	IN	インド	MZ	モザンビーク	VN	ヴェトナム
CN	中国	IS	アイスランド	NE	ニジェール	YU	ユーゴスラヴィア
CR	コスタ・リカ	IT	イタリア	NL	オランダ	ZA	南アフリカ共和国
CU	キューバ	JP	日本	NO	ノルウェー	ZW	ジンバブエ
CY	キプロス	KE	ケニア	NZ	ニュージーランド		
CZ	チェッコ	KG	キルギスタン	PL	ポーランド		
DE	ドイツ	KP	北朝鮮	PT	ポルトガル		
DK	デンマーク	KR	韓国	RO	ルーマニア		

明細書

疎水性基含有多糖類の集合体の形成方法

5

技術分野

本発明は、疎水性基含有多糖類の集合体（会合体）の形成方法に関する。

背景技術

10

多糖類に疎水性基が結合した高分子体である疎水性基含有多糖類は、医薬物を含有する薬物運搬体を被覆する被覆材料などの医用材料として使用されている。例えば、リポソームマイクロカプセル、マイクロスフェア、O/Wエマルションおよび赤血球ゴースト等の薬物運搬体を疎水性基含有多糖類で被覆した多糖類被覆運搬体は、この運搬体に含まれている医薬品の自然流出が抑制されるほか、運搬体の細胞特異的移行率が向上することが知られている。

15

近年、薬物運搬体としてリポソームおよびO/Wエマルションが有望とされているが、これらの薬物運搬体を多糖類で被覆することにより、生体内外における薬物運搬体の化学的・物理的安定性が向上し、さらに特定の細胞群に対する標的指向性も発揮されることが報告されている（Bull. Chem. Soc. Jpn., 62, 791-796(1989)）。また、リポソームを多糖類で被覆することにより、リポソームが物理的に安定化することが報告されている（Drug Delivery System, 5, 261(1990)）。

20

また、疎水性基含有多糖類はタンパク質および疎水性の高い化合物と相互作用し、それらを包埋することが報告されている（Chem. Lett., 1263(1991)）。この文献には、疎水性基含有多糖類の集合体と、種々の球状タンパク質とを室温で混合することにより、タンパク質が疎水性基含有多糖類の集合体に結合し、複合体が形成されることが記載されている。また疎水性基含有多糖類の集合体は過剰

25

のタンパク質存在下においても安定であることが記載されている。

また、疎水性基含有多糖類と抗原とを含むワクチン製剤も知られている (WO 98/09650号)。さらに、疎水性基含有多糖類の集合体と抗原とを室温で混合した後、ゲルクロマトグラフ法で処理することにより、疎水性基含有多糖類と抗原との複合体を単離、精製することができることも知られている (Macromolecules, . 7654(1994))。

ところで、秋吉らは、Macromolecules, . 3062(1993) において、次のことを発表している。すなわち、疎水化高分子は希薄水溶液中で、分子内または分子間で疎水基が自己会合し、結果として高分子が会合した集合体を形成する。特に疎水性基含有多糖類は、希薄水溶液中で数分子が自発的に会合してナノオーダーサイズの比較的単分散な集合体微粒子を形成する。電子顕微鏡観察で、比較的単分散な球状のナノ微粒子が形成していることが確認されている。このようなナノオーダーサイズの比較的単分散な疎水性基含有多糖類の集合体は、水中で分散しているが無色透明な液であり、長時間静置しても濁りや沈殿は生成せず、人の目には水溶液として見える。

疎水性基含有多糖類を水で膨潤させた後、この膨潤液をホモミキサーなどで攪拌した場合は、白濁状の分散液が得られる。このような白濁状の分散液は、疎水性基含有多糖類の一部はナノオーダーサイズの集合体を形成しているが、このような集合体を形成していないものも混在しており、これらは様々な大きさの塊として存在している。このようなナノオーダーサイズの集合体よりも大きな塊が混在している白濁液を医用材料として用いた場合、例えばドラッグデリバリーシステム (DDS) の材料として用いて静脈中に投与した場合、前記塊によって血栓が生じる。一方、疎水性基含有多糖類が均一にナノオーダーサイズの集合体を形成している无色透明な液を用いた場合には、血栓が生じるおそれはない。従って、疎水性基含有多糖類を、各種薬物やタンパク質と複合体を形成させる医用材料などとして用いるためには、水中に溶解 (无色透明な状態で分散) している疎水

性基含有多糖類の集合体が必要となる。

従来、疎水性基含有多糖類の集合体の形成方法として、1) 希薄条件下で疎水性基含有多糖類をジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した後、この溶液を水によって透析する方法、2) 水中で疎水性基含有多糖類を膨潤させた後、この膨潤液を超音波処理する方法 (Macromolecules, . 3062(1993)、WO 98/09650号) が知られている。

しかし、工業的に疎水性基含有多糖類の集合体を大量に製造するには、上記従来の形成方法では非常に困難である。まず従来の透析法においては、1) 大量処理が可能な透析設備が必要である、2) 膨大な量の水が必要である、3) 処理に長時間を要するなどの問題点がある。また従来の超音波処理法においては、1) 一回で処理できる超音波処理量が少ない、2) 照射効率、照射時間の制御が難しく、安定して単分散の集合体を得ることができないので、ロットぶれが大きい、3) 照射チップの劣化により金属片等が混入する場合があるなどの問題点がある。

以上のような背景から、従来の透析法や超音波処理法では疎水性基含有多糖類の集合体の大量製造が困難である。このため、疎水性基含有多糖類の集合体のより簡便な形成方法が望まれているが、前記の透析法および超音波処理法以外に、疎水性基含有多糖類の集合体の形成方法は、これまで知られていない。

ところで、水と油の乳化にはホモジナイザーが使用されているが、疎水性基含有多糖類の集合体の形成に使用された例はこれまで知られていない。

本発明の目的は、上記従来の問題点を解決するため、ロットぶれや不純物等の混入がなく、このため安定して均質な疎水性基含有多糖類の集合体を形成することができるとともに、簡便かつ大量に、しかも短時間で形成することができる疎水性基含有多糖類の集合体の形成方法を提案することである。

発明の開示

本発明者らは、鋭意研究した結果、疎水性基含有多糖類の膨潤液を高圧ホモジナイザーを用いて分散させることにより、疎水性基含有多糖類の集合体が簡便かつ大量に、しかも短時間で得られる知見を得て、本発明を完成するに至った。すなわち、本発明は次の疎水性基含有多糖類の集合体の形成方法である。

5 (1) 水中で疎水性基含有多糖類の集合体を形成させる方法において、

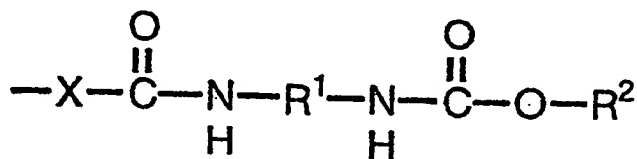
疎水性基含有多糖類を水に膨潤させた後、この膨潤液をホモジナイザーにより 9.8～490MPa (100～5000kgf/cm²) の圧力で分散処理する疎水性基含有多糖類の集合体の形成方法。

10 (2) ホモジナイザーが高圧ホモジナイザーである上記(1)記載の形成方法。

(3) ホモジナイザーが、9.8～490MPa (100～5000kgf/cm²) の圧力で加圧した膨潤液をオリフィスからチャンバー内に噴射して分散処理する高圧ホモジナイザーである上記(1)記載の形成方法。

15 (4) 疎水性基含有多糖類の集合体は、集合体の粒径が10～30nm、疎水性基含有多糖類の会合数が3～20個である上記(1)ないし(3)のいずれかに記載の形成方法。

20 (5) 疎水性基含有多糖類は、-XH基〔式中、Xは酸素原子またはNYで表される含窒素基（ここで、Yは水素原子または炭素数1～10の炭化水素基である。）〕を有する多糖類において、その多糖類を構成する糖単位100個あたり、0.1～10個の-XH基が、下記式(1)



(1)

〔式中、Xは前記Xと同じである。R¹は炭素数1～50の炭化水素基、R²は炭素数12～50の炭化水素基またはステリル基を示す。〕

で表される疎水性基で置換された疎水性基含有多糖類である

上記(1)ないし(4)のいずれかに記載の形成方法。

- 5 (6) 疎水性基で置換される前の多糖類がプルラン、アミロペクチン、アミロース、デキストラン、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシエチルデキストラン、マンナン、レバン、イヌリン、キチン、キトサン、キシログルカンおよび水溶性セルロースからなる群より選択される1種以上である上記(5)記載の形成方法。

10

図面の簡単な説明

- 図1は実施例1-1の結果を示すグラフであり、プルラン-コレステロール誘導体(CHP)の高圧ホモジナイザー処理前および処理後のSEC分析結果のチャートである。図1の(a)はCHPの高圧ホモジナイザー処理前、(b)は処理後のSEC分析結果のチャートである。縦軸は示差屈折計の強度(単位なし)である(以下、同様)。
- 15

図2は実施例1-2ないし1-5の結果を示すグラフであり、(a)は実施例1-2、(b)は実施例1-3、(c)は実施例1-4、(d)は実施例1-5の高圧ホモジナイザー処理後のSEC分析結果のチャートである。

- 20 図3は比較例1の結果を示すグラフであり、透析後のSEC分析結果のチャートである。

- 図4はプルラン(分子量10.8万)およびCHPのSEC分析結果のチャートである。図4の(a)はプルラン(分子量10.8万)のSEC分析結果、(b)はCHPのSEC分析結果、(c)はCHPの集合体のSEC分析結果のチャートである。
- 25

図5はCHP(濃度0.2重量%)を所定時間超音波処理した後のSEC分析結

果の図である。

図 6 は比較例 2 の結果を示すグラフであり、CHP の超音波処理後および高圧ホモジナイザーで処理した後の SEC 分析結果のチャートである。図 6 の (a) は CHP の超音波処理後の SEC 分析結果、(b) は図 6 の (a) の超音波処理液を高圧ホモジナイザーで処理した後の SEC 分析結果のチャートである。

発明を実施するための最良の形態

本発明において使用される疎水性基含有多糖類は、疎水性基を有する多糖類であれば特に限定されないが、次の疎水性基含有多糖類が好ましい。すなわち、 $-XH$ 基〔式中、X は酸素原子または NY で表される含窒素基（ここで、Y は水素原子または炭素数 1 ～ 10 の炭化水素基である。）〕を有する多糖類において、その多糖類を構成する糖単位 100 個あたり、0.1 ～ 10 個、好ましくは 0.1 ～ 6 個の $-XH$ 基が、前記式 (1) で表される疎水性基で置換された疎水性基含有多糖類が好ましい。

前記式 (1) において R^1 で表される炭素数 1 ～ 50 の炭化水素基としては、エチレン基、ブチレン基、ヘキサメチレン基、ジフェニルメタン基などがあげられる。

前記式 (1) において R^2 で表される炭素数 12 ～ 50 の炭化水素基またはステリル基としては、ラウリル基、ミリスチル基、セチル基、ステアリル基、コレステリル基、スチグマステリル基、 β -シトステリル基、ラノステリル基、エルゴステリル基等があげられる。

前記式 (1) で表される疎水性基を有する疎水性基含有多糖類において、疎水性基で置換される前の多糖類（以下、置換前の多糖類という場合がある）としては天然または半合成の多糖類があげられる。好ましい置換前の多糖類としては、プルラン、アミロペクチン、アミロース、デキストラン、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシエチルデキストラン、マンナン、レバン、イヌリン、キチン

、キトサン、キシログルカンおよび水溶性セルロースからなる群より選択される
1種以上のものがあげられる。これらの中ではプルラン、マンナン、キシログル
カン、アミロペクチン、アミロース、デキストラン、ヒドロキシエチルセルロー
ス等が好ましい。またキチン、一部脱アセチル化したキチン、キトサン等の窒素
5 原子を含有する多糖類も好ましい。これらの多糖類は1種単独で使用するこ
とでもできるし、2種以上を組み合わせることもできる。

前記式(1)で表される疎水性基を有する疎水性基含有多糖類は、公知の方法
で製造することができる。例えば、第1段階反応として、 $\text{OCN}-\text{R}^1-\text{NCO}$
(式中、 R^1 は炭素数1～50の炭化水素基である。)で表されるジイソシアナ
10 ート化合物と、 R^2-OH (式中、 R^2 は炭素数12～50の炭化水素基またはス
テリル基である。)で表される炭素数12～50の水酸基含有炭化水素またはス
テロールとを反応させて、炭素数12～50の水酸基含有炭化水素またはステ
ロールが1分子反応したイソシアナート基含有疎水性化合物を製造し、第2段階反
応として、前記第1段階反応で得られたイソシアナート基含有疎水性化合物と前
15 記置換前の多糖類とを反応させる方法により製造することができる。

前記第1段階の反応で用いるジイソシアナート化合物($\text{OCN}-\text{R}^1-\text{NCO}$)
の具体的なものとしては、 R^1 がエチレン基であるエチレンジイソシアナート
、ブチレン基であるブチレンジイソシアナート、ヘキサメチレン基であるヘキサ
メチレンジイソシアナート、ジフェニルメタン基であるジフェニルメタンジイソ
20 シアナートなどがあげられる。

前記第1段階の反応で用いる炭素数12～50の水酸基含有炭化水素(R^2-OH)
としては、例えばラウリルアルコール、ミリスチルアルコール、セチルア
ルコール、ステアリルアルコール、アラキニルアルコール、ドコサノール、ペン
タコサノール、ヘキサコサノール、オクタコサノール等のアルコール由来の水酸
25 基含有炭化水素基があげられる。これらの中では、入手が容易なことから、炭素
数12～35、特に12～20のアルコールが好ましい。またステロール(R^2

ーOH) としては、例えばコレステロール、スチグマステロール、 β -シトステロール、ラノステロール、エルゴステロール等があげられる。

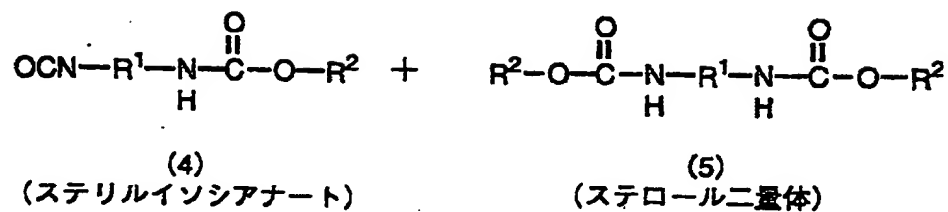
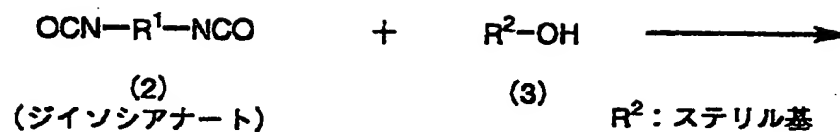
前記 2 段階の反応の一例を、下記の反応式 (I) および (II) に示す。下記反応式では、置換前の多糖類としてプルランを使用している。下記反応式 (I) では、式 (2) で表されるジイソシアナート化合物と、式 (3) で表されるステロールとを反応させて、式 (4) で表されるステアリルイソシアナートを製造する。この反応では、通常式 (5) で表されるステロール二量体が副生成物として生成する。反応式 (II) では、反応式 (I) で得られた式 (4) で表されるステアリルイソシアナートと、式 (6) で表されるプルランとを反応させ、式 (7) で表される多糖類-ステロール誘導体 (疎水性基含有多糖類) を製造する。

1 5

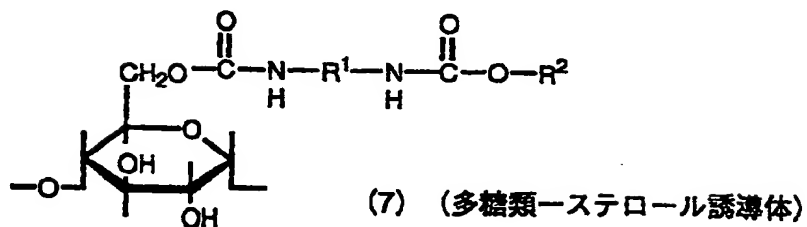
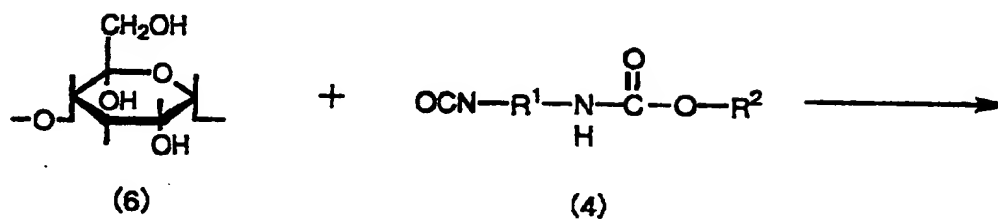
2 0

2 5

反応式 (I)



反応式 (II)



上記反応により得られる疎水性基含有多糖類は、沈殿、遠心分離などの公知の方法により精製することができる。また精製により、式(5)で表されるステロール二量体(副生物)を除去することができる。前記式(1)で表される疎水性基を有する疎水性基含有多糖類およびその製造方法は、特開平3-292301号、Macromolecules, . 3062(1993)などに詳しく記載されている。

5

本発明の形成方法は、下記の工程[1]および[2]により行うことができる。

工程[1]

疎水性基含有多糖類に水を加えて膨潤させる。

10 工程[2]

上記工程[1]で得られた膨潤液をホモジナイザーにより、9.8~490MPa(100~5000kgf/cm²)の圧力で分散処理する。この工程[2]の分散処理は2回以上行うこともでき、数回繰り返すことにより集合体の分散状態はさらに安定化する。

15 以下、本発明の形成方法をさらに詳細に説明する。

前記工程[1]において使用する水の量は、疎水性基含有多糖類に対して30~10000重量倍、好ましくは100~1000重量倍であるのが望ましい。30重量倍未満では疎水性基含有多糖類がゲル状態になるため好ましくない。また10000重量倍を越えると、集合体の形成効率が悪くなるため好ましくない。膨潤を行う水温は特に制限されないが、0~100℃、好ましくは10~50℃であるのが望ましい。

20

25

得られた膨潤液は、攪拌機により攪拌した後、次の工程[2]に供するのが好ましい。このとき使用する攪拌機としては、マグネチックスターラー、ホモミキサー等があげられる。これらの中ではホモミキサーが好ましい。攪拌機の回転数および攪拌時間等は特に制限されないが、回転数は100~15000rpm、攪拌時間は30秒~180分間とするのが好ましい。膨潤液を上記攪拌機で攪拌

した攪拌液は白濁した分散液であり、しばらく静置すると、沈殿が生じる。

前記工程〔2〕において使用するホモジナイザーは、工程〔1〕の膨潤液を9
8～490MPa（100～5000kgf/cm²）、好ましくは98～2
94MPa（1000～3000kgf/cm²）の圧力で分散処理することが
5 できるホモジナイザーである。このようなホモジナイザーとしては、市販されて
いる高圧ホモジナイザーを使用することができる。高圧ホモジナイザーは、高圧
力により剪断力、衝突力およびキャビテーション（圧力降下）を発生させ、これ
らの力により乳化または微分散させることを目的とする装置である。

このような高圧ホモジナイザーを用いた場合、具体的には次のようにして疎水
10 性基含有多糖類の集合体を形成させることができる。まず、膨潤液を前記圧力で
加圧し、この加圧した膨潤液をオリフィスからチャンバー内に噴射してキャビテ
ーション（圧力降下）を発生させる。これにより、噴射された膨潤液は加速され
、チャンバー内で膨潤液同士、および膨潤液と壁との強い衝突が起こる。このと
き受ける衝突力および剪断力により、疎水性基含有多糖類が水中に微分散され、
15 疎水性基含有多糖類の集合体が形成される。このようにして得られる処理液は無
色透明な液であり、長時間静置しても濁りや沈殿が生じない分散液（以下、水溶
液という場合もある）である。

高圧ホモジナイザーによる分散処理は1回でもよく、また2回以上繰り返し行
うこともできる。また高圧ホモジナイザーによる処理はバッチ式で行うこともで
20 きるし、連続式に行うこともできる。高圧ホモジナイザーによる処理回数は、疎
水性基含有多糖類の種類、その疎水基の置換度、水分散液中の濃度、および高圧
ホモジナイザーの処理圧力などに大きく依存するので、一概には言えないが、通
常5回の処理を行えば、比較的単分散で、安定した集合体を形成させることがで
きる。例えば、疎水性基含有多糖類がブルランーコレステロール誘導体であり、
25 この誘導体のコレステロールの置換度が単糖100個当たり1.2個、水分散液
中の濃度が0.2重量%、高圧ホモジナイザーの処理圧力が98MPa（100

0 k g f / c m²) の場合、高圧ホモジナイザーによる分散処理を 3 回繰り返すことで、濁りや沈殿を生じない安定した集合体を形成させることができる。

本発明で利用できる高圧ホモジナイザーの具体的なものとしては、マイクロフルイダイザー（マイクロフルイデックス社製、商標）、マイクロフルイダイザー
5 （みづほ工業（株）製、商標）、D e B E E 2 0 0 0（販売元キューピー（株）製、商標）、A P V ゴーリン（ラニー社製、商標）などがあげられる。

ホモジナイザーで分散処理する膨潤液の温度は特に制限されないが、0 ～ 1 0 0℃、好ましくは 1 0 ～ 5 0℃であるのが望ましい。

このようにしてホモジナイザーで分散処理することにより、単分散の集合体を
1 0 形成させることができる。得られた単分散の集合体、すなわち本発明の方法で得られた疎水性基含有多糖類の集合体は、通常集合体の粒径が 1 0 ～ 3 0 n m、疎水性基含有多糖類の会合数が 3 ～ 2 0 個である。ここで、上記粒径および会合数は平均の粒径および平均の会合数である。また得られる処理液は無色透明な水溶液であり、長時間静置しても濁りや沈殿は生じない。なお、膨潤液をマグネチック
1 5 スターラー、ホモミキサーなどの攪拌機で攪拌しただけでは、単分散な集合体は形成されない。すなわち、攪拌機の回転数を上げたり、攪拌時間を長くしても白濁したままの状態であり、無色透明にはならない。

本発明の方法により形成された疎水性基含有多糖類の集合体は、集合体形成後に凍結乾燥などの方法で乾燥させることにより、疎水性基含有多糖類の集合体を
2 0 固体として得ることができる。この固体は、水を加えることにより、乾燥する前の無色透明な集合体水溶液を復元させることができる。

本発明の方法により形成された疎水性基含有多糖類の集合体は、医薬物を含有する薬物運搬体を被覆する被覆材料などの医用材料として使用することができる。例えば、リポソームマイクロカプセル、マイクロスフェア、O/Wエマルシ
2 5 ョンまたは赤血球ゴースト等の薬物運搬体を被覆する被覆材料として使用することができる。この場合、本発明の方法で得られる疎水性基含有多糖類の集合体は

ロットぶれや不純物等の混入がなく、均質な疎水性基含有多糖類の集合体であるので、医用材料として安全に使用することができ、しかも安定した品質の薬物運搬体を得ることができる。また本発明の方法により形成された疎水性基含有多糖類の集合体は、界面活性剤、増粘剤および化粧品素材などとして利用することもできる。

また本発明の方法では、疎水性基含有多糖類を単独で使用する代わりに、疎水基を有さない多糖類（疎水性基を導入する前の多糖類）、薬物またはタンパク質等を含む疎水性基含有多糖類混合物を使用することもできる。この場合、ドラッグデリバリーシステム（DDS）などの用途展開の可能性が拡大する。

以上の通り本発明によれば、疎水性基含有多糖類の膨潤液を特定の圧力でホモジナイザーにより分散処理しているので、ロットぶれや不純物等の混入がなく、このため安定して均質な疎水性基含有多糖類の集合体を形成することができるとともに、簡便かつ大量に、しかも短時間で形成することができる。

以下、実施例をあげて本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。各実施例における条件は次の通りである。

《サイズ排除クロマトグラフィー（SEC）の分析条件》

- 1) 使用機器：TOSOH HPSECシステム（東ソー(株)製、商標）
- 2) カラム：TSK-gel G4000SWXL（東ソー(株)製、商標）
- 3) 溶離液：0.05%-NaN₃イオン交換水
- 4) 流量：0.5ml/min
- 5) 温度：35℃
- 6) 検出器：RI（示差屈折計）

《動的光散乱法による粒径の測定》

- 使用機器：大塚電子社製、DLC-700（商標）
- 条件：5mW、He-Neレーザー（633nm）
- 温度＝25℃

散乱角 = 25°

濃度 = 4.15 mg/ml

《静的光散乱法による会合数の測定》

使用機器：大塚電子社製、DLC-700（商標）

5 条件：MR-102（示差屈折計）

温度 = 25°C

散乱角 = $30 \sim 130^{\circ}$

濃度 = $0.72 \sim 1.93 \text{ mg/ml}$

合成例 1-1

10 《N-（6-イソシアナートヘキシル）コレステリルカルバメートの合成》

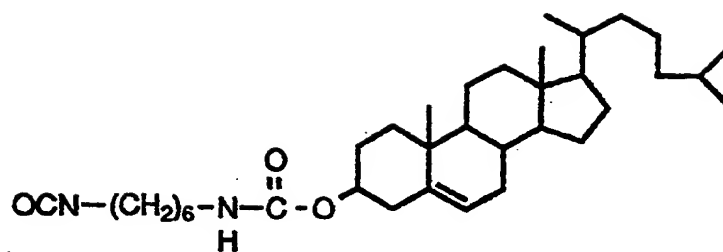
1 liter のナス型フラスコに、コレステロール 25 g (0.065 mol)、トルエン 300 ml を加えて溶解し、さらにトリエチルアミン 17 ml (0.12 mol) を加えた。そこへ、トルエン 300 ml に溶解したヘキサメチレンジイソシアナート 161 g (0.96 mol , 14.8 eq.) を加え、窒素雰囲気下、 80°C で約 6 時間反応させた。反応終了後、トルエンと過剰のヘキサメチレンジイソシアナートを減圧除去した。得られた黄色オイル状の残渣を室温で一夜放置することにより、淡黄色の結晶が生成した。結晶を取り出し、約 1 liter のヘキサンを加え、激しく振とうした後、上澄み液をデカンテーションにより除去した。この洗浄操作を計 4 回行った後、室温で 3 時間減圧乾燥することにより、下記式 (4a) で表される N-（6-イソシアナートヘキシル）コレステリルカルバメートを得た。

15

20

25

5



(4a)

合成例 1-2

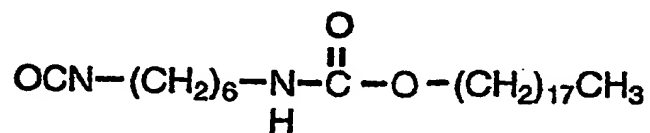
10

《N-(6-イソシアナートヘキシル) ステアリルカルバメートの合成》

15

300 ml のナス型フラスコに、ステアリルアルコール 3.48 g (12.9 mmol)、トルエン 50 ml を加えて溶解し、さらにピリジン 2.04 g (25.8 mmol) を加えた。そこへ、トルエン 50 ml に溶解したヘキサメチレンジイソシアナート 30 g (178 mmol, 14.8 eq.) を加え、窒素雰囲気下、80℃で約3時間反応させた。反応終了後、トルエンおよび過剰のヘキサメチレンジイソシアナートを減圧除去することにより、淡黄色の結晶が生成した。結晶を取り出し、約1 literのヘキサンを加え、激しく振とうした後、上澄み液をデカンテーションにより除去した。この洗浄操作を計4回行った後、室温で3時間減圧乾燥した。これにより、下記式(8)で表されるN-(6-イソシアナートヘキシル) ステアリルカルバメートを得た。

20



25

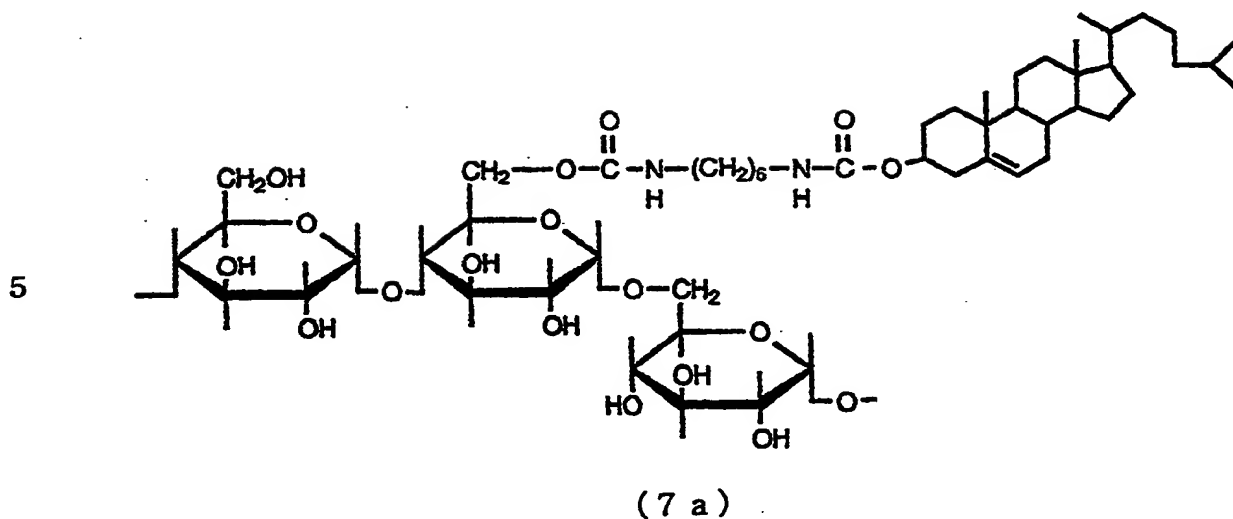
(8)

合成例2

《プルランーコレステロール誘導体 (CHP) の合成》

秋吉らの方法 (Macromolecules, . 3062(1993)) により、疎水性基含有多糖類を合成した。すなわち、1 literのナス型フラスコに、プルラン (平均分子量: 108000、和光純薬社製) 40 g (無水グルコースユニットとして248 mmol) とジメチルスルホキシド (DMSOと略記する場合がある) 420 ml を加え、窒素雰囲気下80℃で攪拌して溶解させた。この溶液に、合成例1-1で合成したN-(6-イソシアナートヘキシル) コレステリルカルバメート 1.78 g (3.21 mmol) をピリジン32.4 ml (0.40 mol) に溶解した溶液を加え、90℃で1.5時間反応させた。

反応終了後、ジメチルスルホキシドを減圧除去し、得られたオイル状の残渣をアセトン6 literに滴下して沈殿を生成させ、精製した。上澄み液を除去後、得られた沈殿にアセトン4 literを加え、室温で一晩放置した。沈殿を濾別採取した後、減圧乾燥した。得られた固体をジメチルスルホキシドに溶解し、これを透析膜 (スペクトロポア社製 Spectra/Por 3, 分画分子量: 3500) に充填し、蒸留水に対して一週間透析した。得られたポリマー溶液1.5 literを常法により凍結乾燥することによって、下記式 (7a) で表されるプルランーコレステロール誘導体 (以下、CHPと略記する場合がある) を得た。なお、CHPの¹H-NMRスペクトルの積分値からCHPにおけるプルランへのコレステロール基の導入率を算出した結果、式 (7a) で表されるプルランーコレステロール誘導体 (CHP) におけるコレステロール基の置換度は単糖100個当たり約1.3個であった。

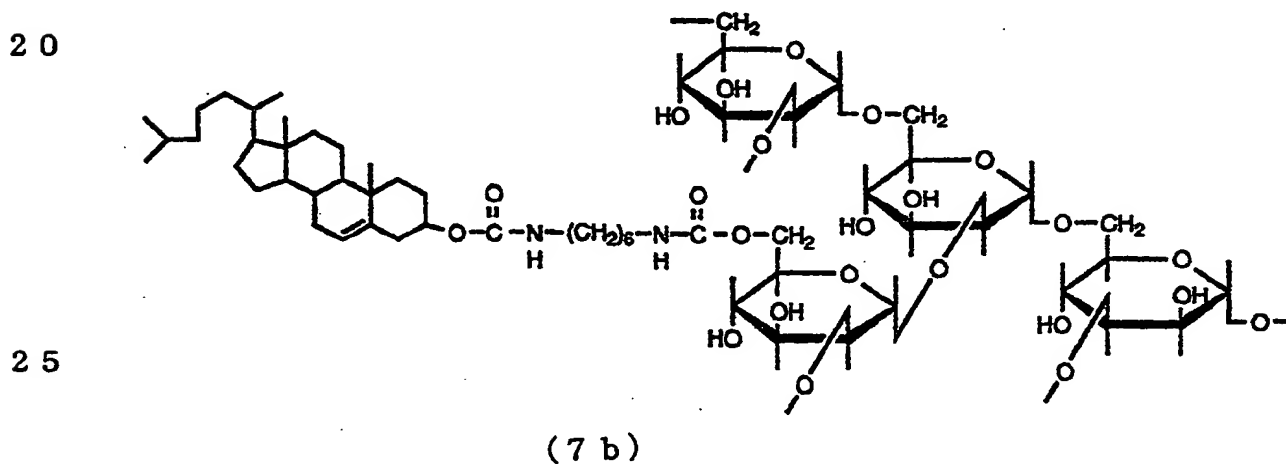


10 合成例 3

合成例 2 と同様な方法により、単糖 100 個当たり約 2.8 個のコレステロール基が導入されたプルランーコレステロール誘導体 (CHP) を合成した。

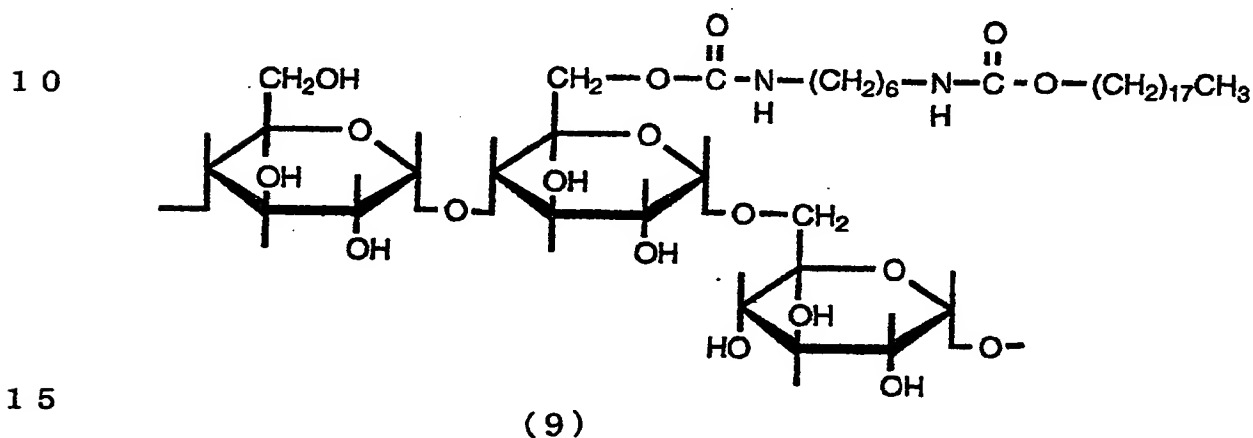
合成例 4

15 プルランの代わりに平均分子量約 85000 のマンナン (シグマ社製) を用いた以外は合成例 2 と同様な方法により、単糖 100 個当たり約 2.3 個のコレステロール基が導入された、下記式 (7b) で表されるマンナンーコレステロール誘導体 (以下、CHM と略す場合がある) を合成した。



合成例 5

合成例 1-1 で合成した N-(6-イソシアナートヘキシル) コレステリルカルバメートの代わりに合成例 1-2 で合成した N-(6-イソシアナートヘキシル) ステアリルカルバメートを用いた以外は合成例 2 と同様な方法により、単糖 100 個当たり約 0.8 個のステアリル基が導入された、下記式 (9) で表されるステアリルプルラン (以下、STP と略す場合がある) を合成した。



実施例 1-1

合成例 2 で得た CHP の 2 g に水 1000 ml を加え、60℃で2時間膨潤させた (CHP 濃度=0.2 重量%)。次に、この膨潤液をホモキサー (5000 rpm) により5分間攪拌した。この時の液の状態は白濁状であった。次に、攪拌後の20℃の膨潤液をマイクロフルイダイザー (高圧ホモジナイザー、みづほ工業 (株) 製、M-110Y、商標) により、98MPa (1000 kgf/cm²) の圧力でオリフィスからチャンバー内に噴射してホモジナイズし、分散させた。このホモジナイズ処理を2回行った。なお、ここで用いたマイクロフルイダイザーは処理能力が約500 ml/min であり、2回のホモジナイズ処理に要した時間は約5分間であった。得られた処理液は無色透明であった。この水

溶液について、前記方法により粒径および会合数を測定した。結果を表1および表2にまとめる。

また、得られた水溶液をサイズ排除クロマトグラフィー（SEC）で分析した。高圧ホモジナイザーによる処理前の結果を図1の（a）、処理後の結果を図1の（b）に示す。図1の結果から、膨潤液を高圧ホモジナイザーで処理することにより、CHPの集合体が形成されていることが確認された。

次に、得られたCHP集合体の水溶液を、凍結乾燥することにより、CHP集合体を白色固体として得た。この固体を濃度が0.2重量%となるように水に添加した後、室温で3時間放置し、復元させた。復元液は無色透明であった。凍結乾燥する前のCHP集合体の水溶液、および復元液についてSECで分析し、両者のチャート図を比較したところ違いは認められず、両者は同等であることを確認した。

実施例1-2～1-6

実施例1-1と同様の操作で、表1に示す疎水性基含有多糖類および条件でホモジナイズを行った。結果を表1および表2にまとめる。またSEC分析の結果を図2の（a）～（d）に示す。図2の結果より、すべての実施例において、疎水性基含有多糖類の集合体が形成していることが確認された。

次に、実施例1-1と同様にして凍結乾燥することにより、各実施例において疎水性基含有多糖集合体を白色固体として得た。また凍結乾燥する前の集合体の水溶液および復元液について、実施例1-1と同様にして比較したところ違いは認められず、両者は同等であることを確認した。

表1 疎水性基含有多糖類

	実施例 1-1	実施例 1-2	実施例 1-3	実施例 1-4	実施例 1-5	実施例 1-6
疎水性基含有多糖類の種類	合成例 2	合成例 2	合成例 3	合成例 4	合成例 5	合成例 2
疎水性基含有多糖類の略号	CHP	CHP	CHP	CHM	STP	CHP
原料多糖類の種類	プルラン	プルラン	プルラン	マンナン	プルラン	プルラン
疎水性基の種類	コレステロール基	コレステロール基	コレステロール基	コレステロール基	スレアリル基	コレステロール基
疎水性基の導入量 *1	1.3	1.3	2.8	2.3	0.8	1.3
未反応多糖類含有量 (重量%)	0	0	0	0	0	13
二量体含有量 (重量%) *2	0	0	0	0	0	0
純度 (重量%) *3	100	100	100	100	100	87

*1 単糖100個当たりの導入基の数

*2 合成例1-1または1-2において、ジイソシアナートの2個のNCO基が反応した副生物の含有量

*3 疎水性基含有多糖類の純度

表2 ホモジナイザー処理および結果

	実施例 1-1	実施例 1-2	実施例 1-3	実施例 1-4	実施例 1-5	実施例 1-6
表1の多糖類の使用量 (g) 濃度 (重量%)	2 0.2	5 0.5	10 0.2	20 0.5	2 0.2	5 0.5
処理液量 (ml)	1000	1000	500	400	1000	1000
処理圧力 (MPa)	98	196	294	98	108	196
処理回数 (回)	2	3	5	3	2	3
処理時間 (分)	5	8	12	8	5	5
Mw ($\times 10^5$)	1.53	1.61	1.49	1.80	1.30	1.61
Mw/Mn	1.06	1.06	1.12	1.08	1.09	1.06
未反応多糖類含有量 (重量%)	0	0	0	0	0	13
集合体の粒径 (nm)	20	20	16	18	22	20
会合数 (個)	6	8	7	7	10	8

*1 Mw: 重量平均分子量

*2 Mn: 数平均分子量

Mw/Mn: 分子量分布

比較例 1

《透析法による集合体の形成》

合成例 2 で得られた CHP の 2 g に、ジメチルスルホキシド (DMSO) 100 ml を入れて溶解させた。これを透析膜 (Spectrum 社製、Spectra/Por 3, 分画分子量: 3500) に充填し、蒸留水に対して 4 日間透析した。得られた透析処理液を SEC 分析した結果を図 3 に示した。図 3 の結果より、単分散の集合体を得られていないことがわかる。

疎水性基含有多糖類の集合体の例として、図 4 の (a) に分子量 10.8 万のプルラン、図 4 の (b) にそれを基盤に用いたプルラン-コレステロール誘導体 (CHP) (プルラン単糖 100 個当たり、1.3 個のコレステロール基を導入) を水分散させたもの、図 4 の (c) にその CHP を水分散後、超音波処理したものの SEC 分析の結果を示す。

CHP は、プルランよりも高分子量側にそのピークが認められ、分子間での会合が生じていることを示している。また図 4 の (b) および図 4 の (c) から、分散液中でルーズな会合状態にあった CHP が、超音波処理によって、比較的単分散な集合体を形成したことを示している。また図 4 の (c) において、集合体の見かけの分散度を標準のプルラン試料を参照して計算したところ、 $M_w/M_n = 1.1$ であった。この集合体を、前記の光散乱法による測定を行ったところ、約 8 分子が会合した粒径 15 ~ 25 nm の微粒子であることがわかっている。

比較例 2

《超音波処理による集合体の形成》

実施例 1-1 と同様に、合成例 2 で得られた CHP の 2 g に水 1000 ml を入れ、60℃で 2 時間膨潤させた (CHP 濃度 = 0.2 重量%)。この膨潤液を、プローブ型のソニケーター (日本精機社製、プローブ外径 12 mm) を用い、150W で 60 分間超音波照射を行った。超音波照射時は、容器の外側を氷水で冷却し、常に液の温度を 4℃以下に保った。所定時間毎 (0、3、5、10、1

5、30、60分)にサンプリングを行い、SEC分析にて集合体形成の経時変化を観察した。各時間でのSEC分析の結果を図5に示す。

図5の結果より、時間の経過に伴って集合体が形成される様子が見られるが、60分後でもピークに肩が見られ、単分散な集合体を形成していないことが確認できる。またさらに60分延長して超音波照射したが、ピークの肩が確認され、変化は見られなかった。この試料を前記動的光散乱法により分析した結果、粒経が約128nmであることがわかった。

参考例1

合成例2で得られたCHPの0.5重量%濃度の膨潤液を調製し、比較例2と同じ条件で超音波照射を60分間行った後、SEC分析を行った(図6の(a))。しかしここではピークが複雑化し、集合体形成が不十分であることから、超音波照射法は濃度に依存することがわかる。またこの後、60分延長して超音波照射したが、ピークに変化は見られなかった。この集合体形成が不十分な超音波処理液を、前記マイクロフルイダイザー(98MPa(1000kgf/cm²))、処理回数=1回)で処理した。得られた処理液のSEC分析結果を図6の(b)に示した。さらに、前記動的光散乱法および静的光散乱法により分析した結果、粒経約18nm、会合数約8個であることが確認された。

以上の結果から、超音波照射する方法では集合体の形成が十分にできないのに対し、高圧ホモジナイザーを用いる実施例の方法では容易に集合体を形成することができることがわかる。

高圧ホモジナイザーを用いた実施例1-1~1-6は、透析による比較例1、超音波処理法の比較例2に比べて、分子量分布の狭い集合体ができていることがわかる。また実施例1-1は、処理量2gで処理時間は約5分であるのに対し、透析の比較例1では、処理量2gで処理時間は4日間、超音波処理法の比較例2では、処理量2gで処理時間は2時間以上を要することから、本発明の方法は簡便かつ大量に、しかも短時間で疎水性基含有多糖類の集合体を形成することがで

きることがわかる。

産業上の利用可能性

5 本発明の方法により形成された疎水性基含有多糖類の集合体は、医薬物を含有する薬物運搬体を被覆する被覆材料などの医用材料として使用することができる。例えば、リポソームマイクロカプセル、マイクロスフェア、O/Wエマルションおよび赤血球ゴースト等の薬物運搬体を被覆する被覆材料として使用することができる。

10

15

20

25

請求の範囲

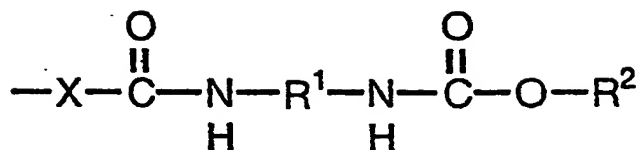
1. 水中で疎水性基含有多糖類の集合体を形成させる方法において、
疎水性基含有多糖類を水に膨潤させた後、この膨潤液をホモジナイザーにより
5 9.8～490MPa（100～5000kgf/cm²）の圧力で分散処理する疎水性基含有多糖類の集合体の形成方法。

2. ホモジナイザーが高圧ホモジナイザーである請求の範囲第1項記載の形成方法。
10

3. ホモジナイザーが、9.8～490MPa（100～5000kgf/cm²）の圧力で加圧した膨潤液をオリフィスからチャンバー内に噴射して分散処理する高圧ホモジナイザーである請求の範囲第1項記載の形成方法。

4. 疎水性基含有多糖類の集合体は、集合体の粒径が10～30nm、疎水性基含有多糖類の会合数が3～20個である請求の範囲第1項ないし第3項のいずれかに記載の形成方法。
15

5. 疎水性基含有多糖類は、-XH基〔式中、Xは酸素原子またはNYで表される含窒素基（ここで、Yは水素原子または炭素数1～10の炭化水素基である。）〕を有する多糖類において、その多糖類を構成する糖単位100個あたり、0.1～10個の-XH基が、下記式（1）
20



5

(1)

〔式中、Xは前記Xと同じである。R¹は炭素数1～50の炭化水素基、R²は炭素数12～50の炭化水素基またはステリル基を示す。〕

で表される疎水性基で置換された疎水性基含有多糖類である

10

請求の範囲第1項ないし第4項のいずれかに記載の形成方法。

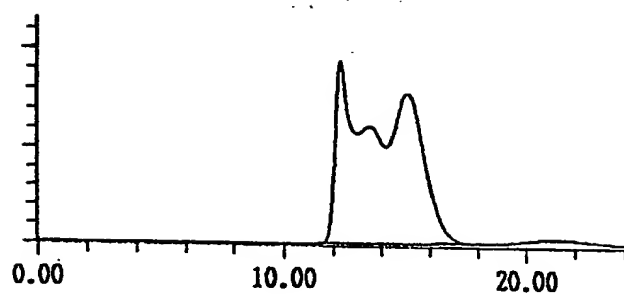
6. 疎水性基で置換される前の多糖類がプルラン、アミロペクチン、アミロース、デキストラン、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシエチルデキストラン、マンナン、レバン、イヌリン、キチン、キトサン、キシログルカンおよび水溶性セルロースからなる群より選択される1種以上である請求の範囲第5項記載の形成方法。

15

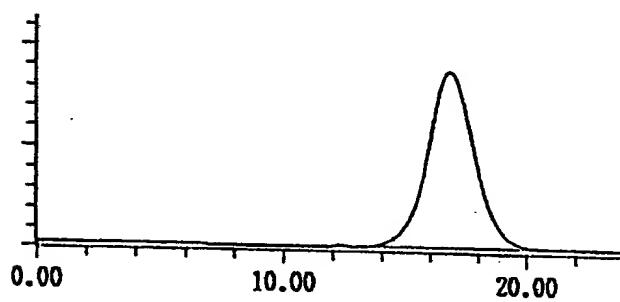
20

25

図 1



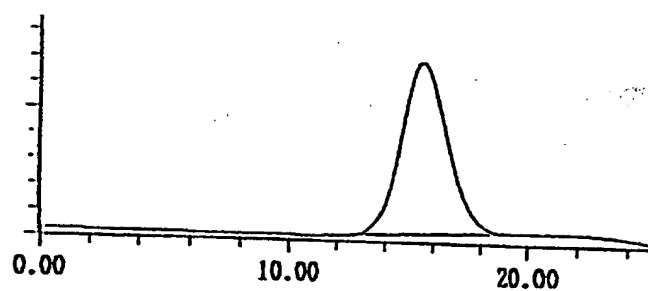
(a)



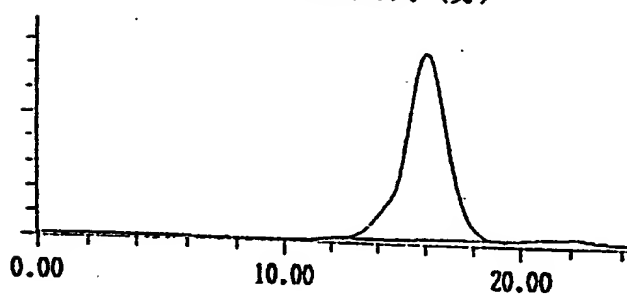
(b)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

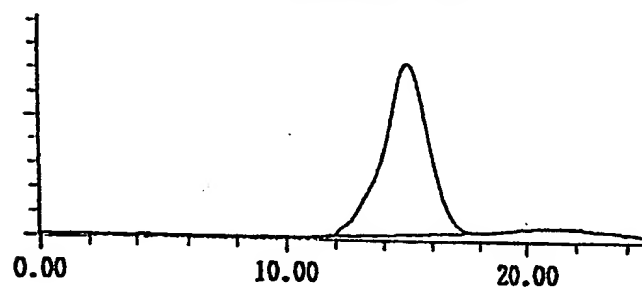
図 2



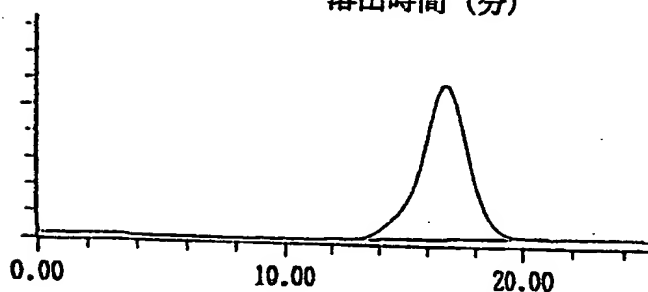
(a)



(b)



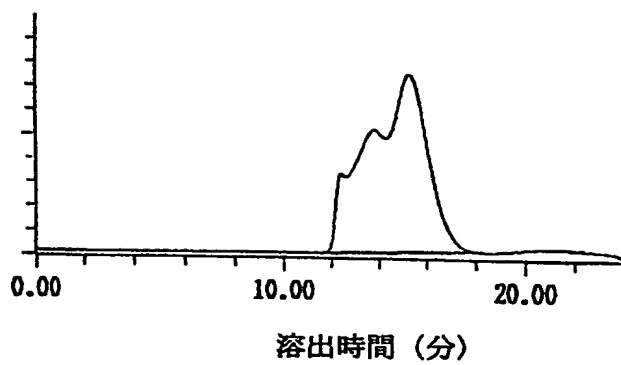
(c)



(d)

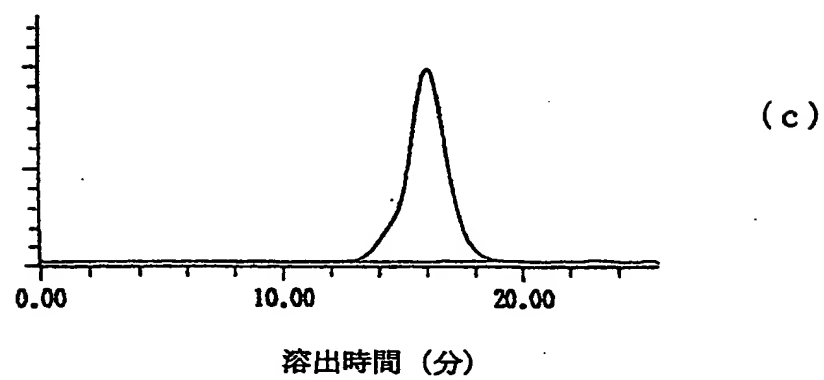
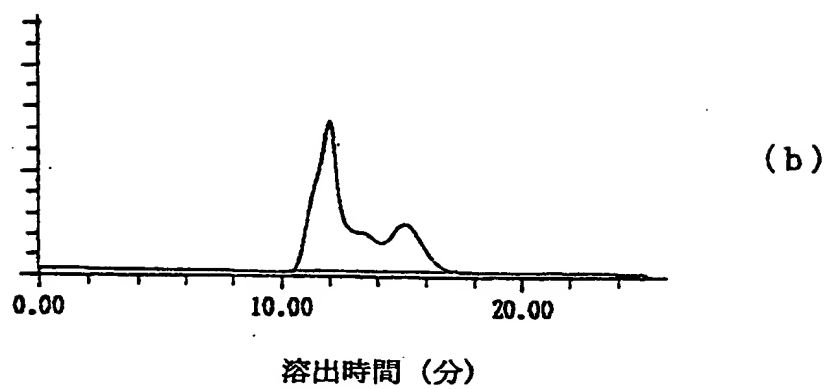
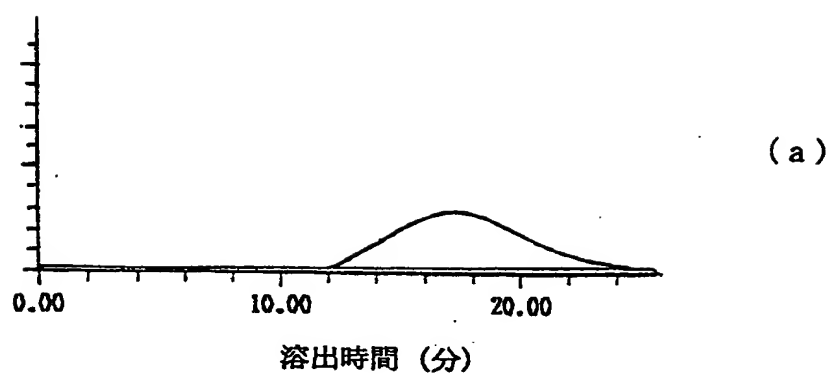
THIS PAGE BLANK (USPTO)

図 3



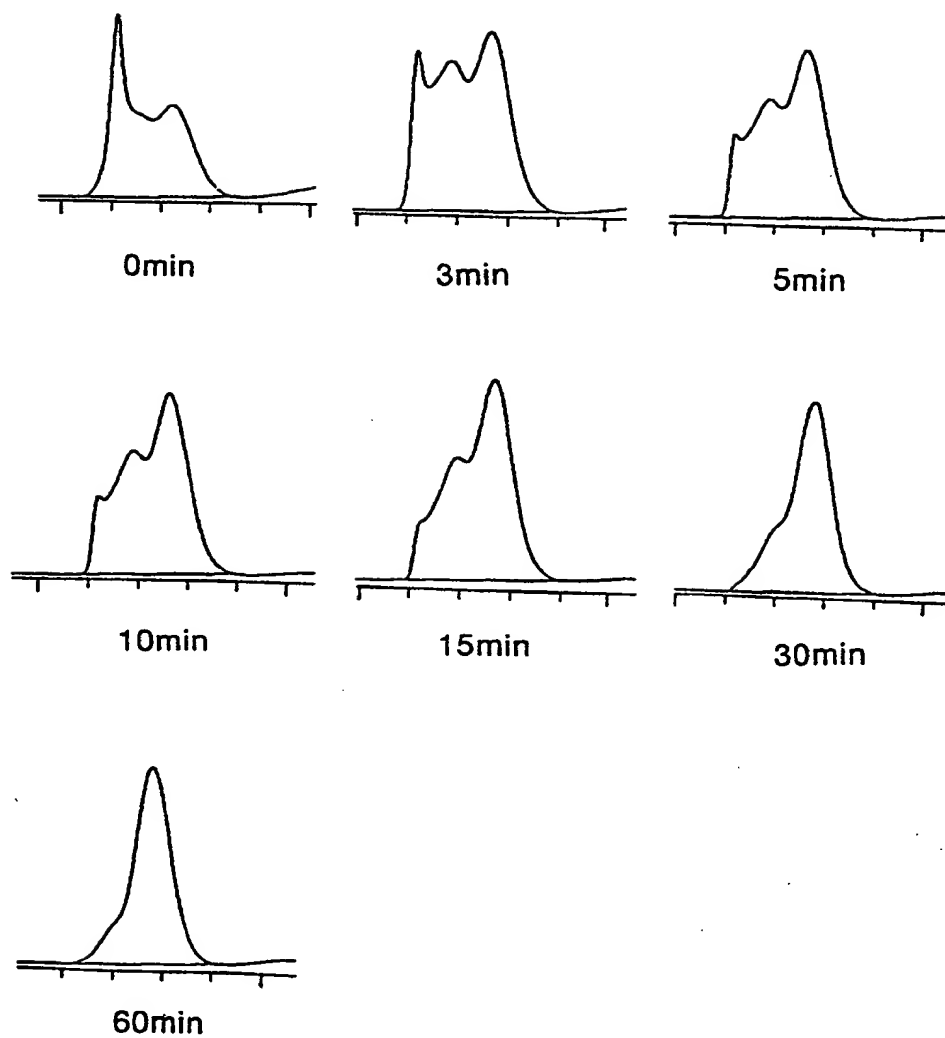
THIS PAGE BLANK (USPTO)

図 4



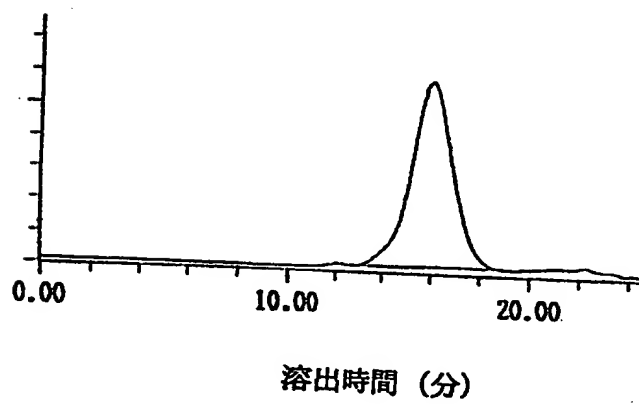
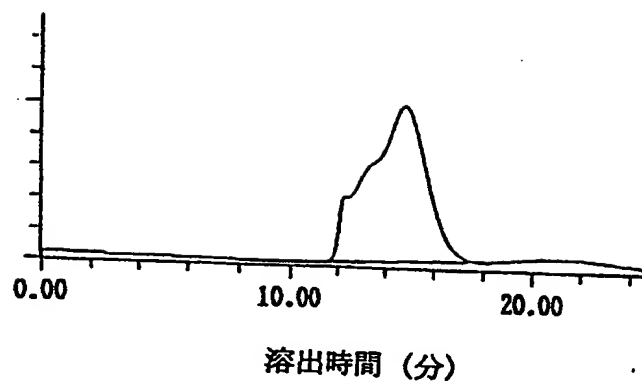
THIS PAGE BLANK (USPTO)

図 5



THIS PAGE BLANK (USPTO)

図 6



THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/01684

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl⁶ C08B37/00, 15/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int.Cl⁶ C08B37/00, 15/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, 3-292301, A (NOF Corp.), 24 December, 1991 (24. 12. 91) (Family: none)	1-6
A	JP, 61-69801, A (Junzou Sunamoto), 18 April, 1986 (18. 04. 86) (Family: none)	1-6
A	JP, 63-319046, A (Eisai Co., Ltd.), 27 December, 1988 (27. 12. 88) (Family: none)	1-6

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.
 ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
16 April, 1999 (16. 04. 99)Date of mailing of the international search report
27 April, 1999 (27. 04. 99)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl^o C08B37/00, 15/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl^o C08B37/00, 15/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	J P, 3-292301, A (日本油脂株式会社), 24. 12月. 1991 (24. 12. 91), (ファミリーなし)	1-6
A	J P, 61-69801, A (砂本 順三), 18. 4月. 1986 (18. 04. 86), (ファミリーなし)	1-6
A	J P, 63-319046, A (エーザイ株式会社), 27. 12月. 1988 (27. 12. 88), (ファミリーなし)	1-6

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

16. 04. 99

国際調査報告の発送日

27.04.99

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

弘 實 謙二

4 P 7433

電話番号 03-3581-1101 内線 6617

THIS PAGE BLANK (USPTO)